

ヨード化蛋白の研究 第4報 メラニン細胞拡張ホルモンのヨード化

著者	石川 信雄, 竹石 トシ子
雑誌名	星薬科大学紀要
号	6
ページ	20-23
発行年	1957
URL	http://id.nii.ac.jp/1240/00000007/

ヨード化蛋白の研究 第4報

メラニン細胞拡張ホルモンのヨード化

石川 信雄 竹石 トシ子

脳下垂体後葉より抽出されたメラニン細胞刺激ホルモン (MSH) は他の後葉物質たる パソプレツシン, オキシトンと異りアルカリに対して抵抗性があるのが特徴である。

Jores⁽¹⁾はアルカリ処理をなすと MSH の作用は数倍強化される事を認めその理由として次の如く考えた⁽²⁾。i) アルカリに依る障害物質の破壊 ii) ホルモン自体の化学的变化による活性化。Stshle⁽³⁾も亦 MSH を $N/10$ アルカリ液中に室温で一日放置するとき効力の増強を認めた。彼はアルカリ処理前後の生物学的効力を比較する時, 定量的でなく定性的に観察せねばならぬと称した。即ち, より小量で効力があると云うのではなくより持続的であると云う点である。換言すればアルカリ処理は本来のホルモンから他の型の物質に定性的に変化すると考えた。

何れにしても MSH 内部構造に何等かの変化が行われて居ると見て差支えない。

以上の如くアルカリ処理による効力増強の機序につき究明した報告はない。

著者は MSH のチロジン基の変化に関し興味を持ち研究中であるがホルモン分子中のチロジン基が生物学的反応発見の重要因子である事に若干の知見を得たので報告する。若しアルカリ処理により MSH 分子内チロジン基に何等かの変化が起つたとすれば, ヨード化も亦変化が見られるに違いない。かかる見地から酸性型及アルカリ型 MSH につき夫々ヨード化反応速度を測定し, 同時にヨード含量の増加につれて生物学的反応が如何に変化するかを検討した。

ヨード化によりペプチド結合中のチロジン基をジヨードチロジン基に変化させるに際し最も留意すべき点は同時に傍生される酸化反応を可及的に防止し, MSH 分子内部構造に及ぼす影響を避ける事である。この為に特殊条件下のヨード化を実施した。微酸性緩衝液, 低温, 静置の条件にて反応

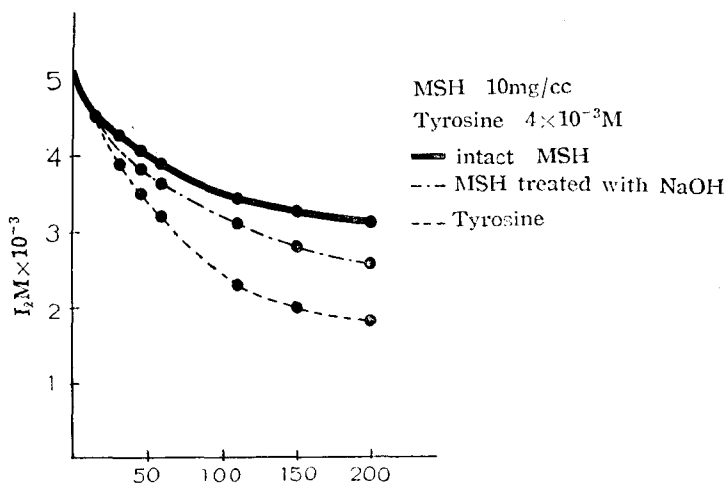


Fig. 1 Rate of Iodine Disappearance in PH 5.7(5°C)

を極めて緩徐ならしめた。ヨード化剤としてヨードヨードカリ液が比較的緩和に作用するのを利用し、その結果各種ヨード含量の異なる MSH を逐次的にサンプリングする事が出来て生物学的反応を平行的に実施するを得た。

著者法⁽⁴⁾⁽⁵⁾により得た MSH はチロジン含量 4.68% (Lugg 氏法)⁽⁶⁾である。若し完全にヨード化された場合、理論量ヨード結合は $5.16 \times 10^{-4} \text{mol/g}$ 蛋白に相当する。本条件下では $1.98 \times 10^{-4} \text{mol/g}$ 消費で平衡に達する。(Fig.1) 対照チロジンのヨード消費は平衡時 $3.36 \times 10^{-3} \text{M}$ である。これより計算すると pH 5.7 に於ては MSH チロジン基の 59%が反応した事になる。次にアルカリ型 MSH にて同様の実験を行つた所 $2.56 \times 10^{-4} \text{mol/g}$ のヨードが消費されて平衡となりチロジン基の 77%がヨード化されて居る事を示し、酸性型よりもアルカリ型に於てヨード化反応の促進が認められた。

次に酸性型ヨード化 MSH を夫々一定時間毎に反応を停止させて得た各種ヨード含量の異なる検体を用いて生物試験を実施した。(Table 1)

Table 1 Effect of Progressive Iodination on Activity of MSH.

Series No.	Iodine combined M per g MSH.	Iodine combined with MSH%	Iodine combined per M Tyrosine	MSH. Responses *
I	0.66×10^{-4}	0.84	0.25	++
II	0.96×10^{-4}	1.22	0.37	++
III	1.16×10^{-4}	1.47	0.45	+
IV	1.26×10^{-4}	1.60	0.49	-
V	1.27×10^{-4}	1.61	0.50	+

即ち $1.16 \times 10^{-4} \text{mol/g}$ のヨード化にて効力低下が見られ、 $1.26 \times 10^{-4} \text{mol/g}$ のヨード化では効力激減を認めた。之に反しアルカリ型 MSH ヨード化体に於ては $1.26 \times 10^{-4} \text{mol/g}$ のヨード化段階では猶未だ相当の効力が残存されて居るのを知つた。この事はアルカリ型 MSH が効力低下を起すに必要なヨード結合量は酸性型 MSH よりも大である事を示す。換言すれば、アルカリ処理された MSH はチロジン基の活性化(恐らくフェノール水酸基と他基との水素結合の離脱)が行われて居るのではないかと思惟される。猶現在紫外部吸収スペクトルによるチロジン基の推移を実験中であるが、その結果により更に詳細を報告したい。猶 ACTH 及低分子化された MSH についての実験も続行中である。

以上の実験により MSH 分子中のチロジン基が生物学的反応発現の重要因子であることを認めた。

本研究に協力された藤田礼三君に感謝する。

実 験 の 部

ホルモンのヨード化

MSH は著者法⁽⁴⁾⁽⁵⁾により作製した $1\gamma=1 \text{m.u.}$ の製品を用いた。本品 400mg を pH 5.7 酢酸酢酸ナトリウム (0.182M 緩衝液酢酸ナトリウム + 0.0341M ヨードカリ) 20cc に溶解し 5°C に冷却する。ヨードヨードカリ液は I_2 $5.16 \times 10^{-3} \text{m}$ 液 (0.182mNaAc + 0.0341mKI + 0.0056m I_2) 20cc を調製し混合前記液とする。

ヨード吸収度の測定

(10mg 蛋白/cc) 混合液を一定時間毎に 5cc宛サンプリングして直ちに 1M-HCl 10cc 中に注加し反応を停止せしめる。ヨードの遊離量を 0.01N チオ硫酸ナトリウムを以て滴定する。対照チロジン液は $2.58 \times 10^{-3} \text{m}$ 液を使用して同様のヨード吸収曲線を作製する。

アルカリ処理

検液 1cc に 0.2N NaOH 1cc を加え 15 分間煮沸水中加温し一日室温放置後 0.2N HCl を以て中和する。0.1N 塩酸を以て中和し酢酸ナトリウム緩衝液を加えて 20cc (PH 5.7) とす。

効力試験法

ホトケドジョウ (*Lefua echigonia*) の体重 1~2g, 体長 5~8cm の比較的幼少なるものを試験動物とする。動物を白色容器に入れ、日光の近くに飼育すると数日にて体色は淡灰色に変化する。この時生体のまま尾ヒレを鏡検 (150倍) すれば、メラニン色素細胞は球形に縮小して居る。蛙皮膚によるよりも明瞭。被検液 0.5cc を 4 分の 1 注射針を用い背部皮下に 0.5cm 刺入すれば完全に注射出来る。注射後白色容器中に遊泳させ一定時間毎に反復鏡検 (150倍) して効果を判定する。(Fig 2)

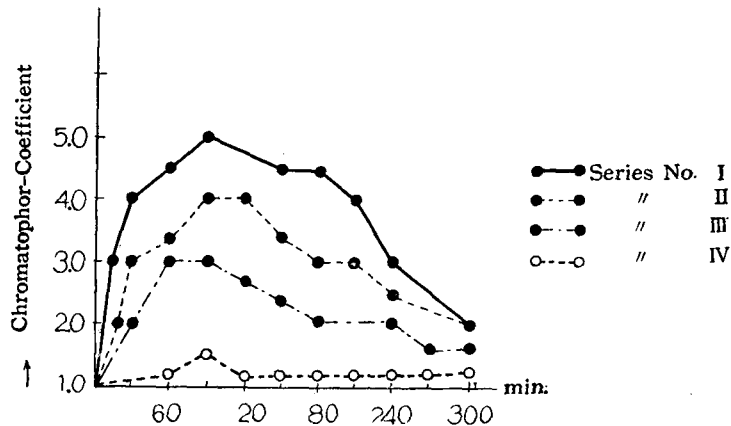


Fig. 2 Changes in Melanophore-size of Dojos Fin following Injection of iodinated MSH.

検液調整及判定

検体 1cc をとり、水にて稀釈し 100cc となして検液とする。判定基準は色素細胞指数法によつた。(7)

総 括

Melanophore hormon をアルカリ処理する時は効力がより持続性となることが報告されて居る。然しその作用機序について説明したものは余りない。著者はホルモン作用発現の一因子としてチロジンの遊離フェノール性水酸基が重要であると考え、この為にホルモンの階段的ヨード (Progressive iodination) を実施した。ヨード化は遊離フェノール基を有するチロジンのみに行われる。従つてアルカリ処理によつて遊離フェノール性水酸基が増加すれば、ヨード化も促進される。ヨード化の進むにつれて生物学的反応は減少する。

- 1) Jores : Zeitschr. exp. Med. **87**, 266(1933)
- 2) Joses : Endokrinol **12**, 90(1933)
- 3) Stehle : J. pharmacol, **57**, 1(1936)
- 4) 石川信雄 : 日本内分泌学会誌 **19**, 277(1943)
- 5) 石川信雄 : 特許 165005 号

(Microscopical Photograph $\times 150$)

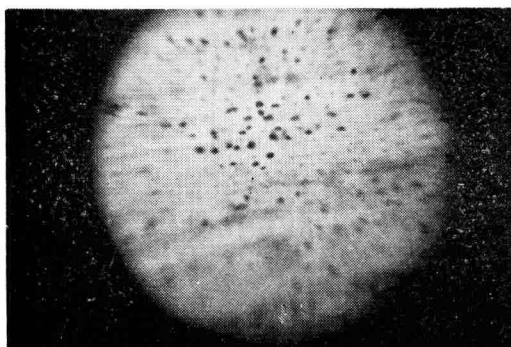


Photo. 1 MSH Response injected with fully iodinated MSH (Series No. IV)

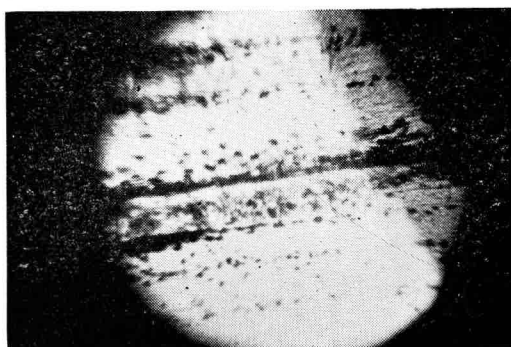


Photo. 2 Partially iodinated MSH (Series No. II)

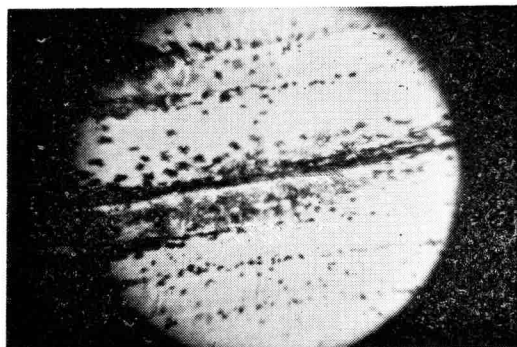


Photo. 3 Iodinated MSH after Alkali Treatment (Series No. V)

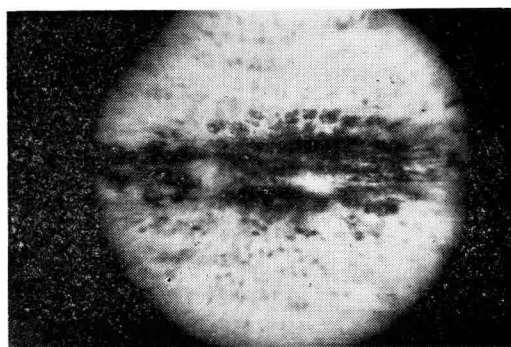


Photo. 4 MSH(Control following) Injection of 0.05cc(60ν'/cc)

6) J. W. H. Lugg : Biochem. J. **32**. 775(1938)

7) 榎並仁 : 生物学実験講 17 頁(1954)
